重要卵菌綱植物病原菌之分類與鑑定

黃晉興[1,*] 安寶貞[2]

[1] 行政農業委員會農委會農業試驗所植物病理組。台灣 台中市。
[2] 行政農業委員會農委會農業試驗所植物病理組退休研究員兼組長。台灣 台中市。

摘要

卵菌(oomycetes)主要的生物特徵是會產生卵圓形的休眠孢子(卵孢子)以及游動的孢子(游走子)，雖然遺傳親緣關係和某些藻類相近，但無葉綠素無法行光合作用且形態與部分生物特性(菌絲)則與真菌類似，故又稱類真菌 (pseudofungi)。卵菌綱(Oomycetes)有一些成員是重要的植物病原菌，造成農業上的經濟損失或生態上的景觀破壞，這些植物病原卵菌(一千多種)多數屬於露菌目(Peronosporales)，一些屬於白銹菌目(Albuginales)，以及少數屬於水霉目(Saprolegniales)。隨著分子生物技術的發展，這 3 個目的植物病原卵菌的分類地位因時代與分類系統有所差異，有些舊有的屬種被重新分類或分拆，也有更多的新種被發現與命名。現今植物病原卵菌的鑑定方法除了傳統上依據形態特徵之外，核酸序列親緣關係的重要性更是日益提升，故形態特徵與核酸序列親緣關係便成了卵菌分類與鑑定的重要依據。

關鍵詞：卵菌綱、類真菌、植物病害

前言

本文所謂的 “卵菌” (oomycetes)，指的是分類地位屬於卵菌門 (Phylum Oomycota) 的微生物，俗稱 “水霉” (water mold) 或 “藻菌” (Phycomycetes)，主要的外觀特徵為無間隔的菌絲、卵圓形厚壁的休眠孢子—卵孢子(oospore)(即卵菌的名稱由來)，與產生具有游動能力的游走子(zoospore)，因不具葉綠素故無法進行光合作用，需由菌絲分泌酵素將養分在體外分解後，再吸收利用。由於卵菌多數種類以菌絲生長與吸收外界養分，以及能產生孢子(spore)的特性與真菌 (fungus) 相似，故以往一直被認為是真菌界 (Kingdom Fungi) 的一員 (Alexopoulos and Charles 1979)。然而卵菌

*論文聯繫人
E-mail: jhhuang@tari.gov.tw

在雙套染色體生物體態、鞭狀與羽狀各一的雙鞭毛、細胞壁組成、粒線體組成結構，以及有些生物化學特性與一般真菌不同(表一)，加上核酸序列的比對和某些藻類(如矽藻、黃綠藻) 較近 (Gunderson *et al.* 1987; Van de Peer and De Wachter 1997)，在 1990 年之後被分類學者將之與真菌分開 (Alexopoulos *et al.* 1996)。由於大部分卵菌外觀形態與真菌相似，但生理與遺傳性狀有別於真菌，故卵菌又被稱之為 “類真菌” (pseudofungi)。大部分的卵菌喜好有水的環境，多為腐生性，然而有一些是水生動物的寄生菌，有一些是哺乳動物的寄生菌，有一些則是植物的重要病原菌(Breake & Thines 2017)，亦為本文介紹的重點。

卵菌綱植物病原菌在全球農業上造成多種重大作物疫情，2014 年由數百位植物病理學家票選 10 大植物病原卵菌(Kamoun *et al.* 2014)，分別為 : (1) *Phytophthora infestans* (晚疫病菌)，此菌在 1845 年引起馬鈴薯晚疫病(late blight)造成愛爾蘭大飢荒事件，使人們開始重視植物病理學(Agrios 2005)，至今仍然是造成馬鈴薯生產的重大病原菌；(2, tied) *Hyaloperonospora arabidopsidis* (阿拉伯芥露菌病菌)，除了是阿拉伯芥的重要的病原菌之外，此菌也是卵菌綱病原菌—寄主植物之間的分子病理學重要研究系統；(2, tied) *Phytophthora ramorum* (櫟樹猝死疫病菌)，能危害多種樹木與觀賞植物造成大規模林木死亡，是全球重大的林木病原菌；(4) *Phytophthora sojae* (大豆疫病菌)，主要危害大豆或其他豆類，每年造成 10 億美元以上的損失；(5) *Phytophthora capsici* (辣椒疫病菌)，可危害多種作物造成經濟損失，傳播力高且遺傳歧異度變化大；(6) *Plasmopara viticola* (葡萄露菌病菌)，是葡萄產業的最重要的威脅，在歐美葡萄產區每年都會造成不小的經濟損失；(7) *Phytophthora cinnamomi* (樟疫病菌)，危害林木與果樹造成嚴重的經濟損失，寄主超過千種，多年來在澳洲、南歐與美國造成自然景觀的破壞；(8, tied) *Phytophthora nicotianae* (syn.: *Phytophthora parasitica*，菸草疫病菌)，寄主超過 250 個屬與數千種，在溫暖地區造成嚴重植物病害；(8, tied) *Pythium ultimum* (終極腐霉菌)，寄主超過 300 種以上，主要感染播種的種子、根等造成產量損失，也能以腐生的方式生長與存活，生態棲所分佈很廣；(10) *Albugo candida* (薺菜白銹病菌)，造成十字花科作物的重要病害。

卵菌一直以來都是臺灣作物的重要病原菌(無名氏 2019)，近年來有多種卵菌綱植物原菌入侵台灣，造成嚴重的植物疫情，包括 *Phytophthora infestans* US11 菌系造成馬鈴薯與番茄晚疫病 (Jyan *et al.* 2004)，數種露菌病包括 *Peronospora belbahrii* 引起之羅勒露菌病(陳等 2010)、*Plasmopara obducens* 引起之鳳仙花露菌病(黃與李 2015)…等，此外，每逢雨季則常在作物出現所謂的“水傷”，許多案例也是由卵菌綱植

物病原菌造成(黃與安 2019)，這些病原菌造成之作物病害不僅造成作物產量與品質的損失，且每年皆要花費大量的經費用來進行病害防治。

植物病原卵菌綱微生物的分類

卵菌綱生物因年代與分類系統的不同，各屬的卵菌分類地位有所差異 (表 2)，目前的分類體系是以核酸序列比對的親緣關係(molecular phylogeny)為主體，並搭配形態特徵。依 Beakes and Thine (2017)分類體系有 10 個目，然而絕大部分的植物病原卵菌分類上是屬於水霉目 (Saprolegniales)、露菌目 (Peronosporales) 與白銹菌目 (Albuginales) 這 3 個目，本文的分類體系亦以此為主，至於種的數目則參考真菌生物多樣性研究中心 (Centraalbureau voor Schimmelcultures fungal biodiversity center) 的線上資料庫 MycoBank (www.mycobank.org) 在 2022 年 6 月 30 日前的資料。

1. 水霉目(Saprolegniales)：是植物病原菌的種類少，只有水霉科 (Saprolegniaceae) 的綿霉屬 (*Achlya* spp.)少數幾個種，和疣頂霉科 (Verrucalvaceae) 的絲囊霉屬 (*Aphanomyces* spp.)的少數幾個種是植物病原菌 (Thines 2014)，主要造成浸水的作物出現根腐病徵，嚴重時造成植物死亡，這 2 個屬於 MycoBank 各列有 140 多個與 40 多個有效種名，臺灣目前還未有此目植物病原菌的報告。
2. 露菌目(Peronosporales)：大部分的植物病原卵菌屬於此目。

(1). 腐霉菌科 (Pythiaceae)：計有腐霉菌屬 (*Pythium*) 與亞腐霉菌屬 (*Pythiogeton*)，曾和其它科非植物病原菌的微生物共被提為腐霉菌目 Pythiales (Dick 2000)。

i. 腐霉菌屬 (*Pythium*) 的種類甚多，MycoBank 列有 376 個有效種名 (含亞種)，其中有 59 個非有效命名。2004 年有學者利用核酸序列的親緣關係將腐霉菌區分為 A-K 共 8 群(Levesque & de Cock 2004)，其中的 Clade K 後來被命名為 Genus *Phytopythium* (Bala 2010; De Cock *et al.* 2015)，歸類於露菌科；同年 Uzuhashi 等人將腐霉菌屬依孢囊的形態再區分成 5 個屬，其中 *Pythium*、*Globisporangium*、*Ovatisporangium* 等 3 個屬的種類較多，後者即是 *Phytopythium* 的同物異名(分類上仍以 *Phytopythium* 為主)，而 *Elongisporangium*、*Pilasporangium* 此 2 個屬較罕見(Uzuhashi *et al.* 2010; Nguyen *et al.* 2022)。大部分的腐霉菌是腐生或兼性植物病原菌，可感染植物造成萌前與萌後猝倒、根腐、莖腐、果腐、葉枯與採收後的病害，有些種類可寄生在真菌或卵菌上(Van Der Plaats-Niterink 1981)，有些種類甚至是昆蟲

(Saunders *et al.* 1988)、魚 (Van Der Plaats-Niterink 1981) 、藻類 (Takahashi *et al.* 1977)，甚至是哺乳類動物 (包括人類) 的病原菌 (Mendoza *et al.* 1996; Gaastra *et al.* 2010)。

ii. 亞腐霉菌屬(*Pythiogeton*)曾一度被提升至 Pythiogetonaceae 科(Dick 2001)，於 MycoBank 列有 16 個有效種名，只有 3 個種被認為是植物病原菌 (Huang 2013)，主要感染根部或莖基部浸水處，其中 *Pythiogeton zizaniae* 是造成臺灣茭白基腐病的主要病原菌 (Ann *et al.* 2006; Huang *et al.* 2013)。

(2). 露菌科 (Peronosporaceae)：計有 *Phytopythium* 屬、疫病菌屬 (*Phytophthora*)、海生疫病菌屬 (*Halophytophthora*)，以及 20 個屬的露菌 (downy mildew) (Beakes &Thine 2017)。

i. *Phytopythium* 屬於 2010 年之前分類上是仍隸屬於腐霉菌科 (Bala 2010; De Cock e*t al.* 2015)，MycoBank 列有 26 個有效種名。此屬特性與腐霉菌屬相似，為腐生或兼性植物病原菌(De Cock *et al.* 2015)。

ii. 疫病菌屬(*Phytophthora*)：自 2000 年起，學者以核酸序列比對認為疫病菌與露菌親緣較腐霉菌近 (Cooke *et al.* 2000)，爾後疫病菌屬則被建議分類在露菌科中(Goker *et al.* 2007)。多數疫病菌種類為植物病原菌，前述所言的十大植物病原卵菌中，疫病菌屬則佔 6 名 (Kamoun *et al.* 2014)，可見此屬病原菌在植物病原卵菌界的重要性。大部分種類可感染根部或莖基部，造成根腐、莖腐 (裾腐)或植株死亡；另一部分種類的疫病菌多感染作物地上部，造成葉枯、莖枯、花腐、果腐…等病徵，或有些可同時感染植物地下部與地上部(Erwin & Ribeiro 1996)；自 2000 年以後，有許多新種是從森林土壤與河水中分離得到，尚未清楚其對植物之病原性(Hansen *et al.* 2012)。MycoBank 列有 318 個有效種名 (含亞種與雜交種)。

iii. 海生疫病菌屬 (*Halophytophthora*)：MycoBank 列有 28 個有效種名，為棲息於鹽鹼地或海洋中的微生物 (Nakagiri 2000)。

iv. 露菌(downy mildew)：計有 20 個屬超過 700 種(Thines 2014)，20 個屬分別為 *Basidiophora*, *Baobabopsis*, *Bremia*, *Benua*, *Eraphthora*, *Graminivora*, *Hyaloperonospora*, *Novotelnova*, *Paraperonospora*, *Perofascia*, *Peronosclerospora*, *Peronospora*, *Plasmopara*, *Plasmoverna*, *Poakatesthia*, *Protobremia*, *Pseudoperonospora*, *Sclerospora*, *Scleropthora*, *Viennotia*。全部都是絕對寄生菌 (obligate

parasites)，通常具有寄主專一性，多為空氣傳播由氣孔侵入而感染作物地上部為主，造成葉片、花、果或幼莖出現壞疽斑，長出透明至灰色的黴狀物(通常在葉背氣孔)，被稱為露菌病(downy mildew)，有時也會系統性的感染，造成植株畸形生長(Thines 2014)。

3. 白銹菌目(Albuginales)：目前只有一個科—白銹菌科 (Albugiaceae) 3 個屬 (*Albugo*、*Pustula*、*Wilsoniana*)，MycoBank 分別列有 90、71 與 6 個有效種名。此科的植物病原菌為絶對寄生菌，多感染雙子葉植物，通常具有寄主專一性，有些則寄主範圍較廣(Khunti *et al.* 2000)。為空氣傳播由氣孔侵入，而感染作物地上部，造成葉片、花或幼莖出現白色泡狀的病斑，被稱為白銹病(white blister or white rust)，有時也會系統性的感染，造成植株莖葉或幼葉畸形 (Jacobson *et al.* 1998)。

重要卵菌綱植物病原菌之鑑定

植物病原卵菌(一千多種)多數屬於露菌目(Peronosporales)，一些屬於白銹菌目(Albuginales)，以及少數屬於水霉目(Saprolegniales)。以下細談的對象為水霉目(Saprolegniales)的植物病原菌 *Achlya* (綿霉屬)及 *Aphanomyces* (絲囊霉屬)，露菌目(Peronosporales)的腐霉菌屬 (*Pythium*)、亞腐霉菌屬 (*Pythiogeton*)、*Phytopythium* 屬、疫病菌屬(*Phytophthora*)與露菌(20 個屬)，以及白銹菌目(Albuginales)的 3 個屬。鑑定上是以形態特徵與核酸序列的親緣關係並重。

1. 水霉目 (Saprolegniales)

水霉目的形態特徵：孢囊柄(sporangiophore)未明顯分化，孢囊(sporangium)呈粗大菌絲狀，游走子在孢囊內分化成型(圖 2)，可產生 2 條鞭毛在前端而體呈梨形的一次游走子(primary zoospore)，爾後靜止成為不動孢子(aplanospore)，再分化成可產生 2 條鞭毛在側端而體呈腎形的的二次游走子(secondary zoospore)；藏卵器(oogonium)與藏精器(antheridium)結合可產生多個卵孢子，或有些種類只產生 1 個卵孢子(Alexopoulos & Charles 1996; Beakes *et al.* 2014; Beakes & Thine 2017)。

Saprolegniaceae (水霉科)的 Achlya (綿霉屬)與 Verrucalvaceae 科的 Aphanomyces (絲囊霉屬)形態上差異在於孢囊的形態、游走子在分化形成的方式、有無釋放管(discharge tube)以及藏卵器內有多個或單一個卵孢子 (Beakes *et al.* 2014)。此外，以 rDNA large subunit (LSU), small subunit (SSU), ITS 的核酸序列的親緣關係可鑑定至種(Steciow *et al.* 2014)。

2. 露菌目 (Peronosporales)

露菌目的形態特徵：孢囊柄分化明顯

游走子在孢囊內分化(圖 2)，或孢囊柄分化不明顯而游走子在孢囊外的泡囊(vesicle)內分化成型，只產生 2 條鞭毛在側端而體呈腎形的的二次游走子，或孢囊不產生游走子而直接發芽產生菌絲；藏卵器內只產生 1 個卵孢子(Alexopoulos & Charles 1996; Beakes *et al.* 2014; Beakes & Thine 2017)。腐霉菌科的腐霉菌屬(*Pythium*)與亞腐霉菌屬(*Pythiogeton*)，以及露菌科的 *Phytopythium* 屬與疫病菌屬(*Phytophthora*)皆能以人工培養基培養，而形態上的主要差異在於游走子形成與水中釋放過程 (圖 3)。

(1) 腐霉菌(*Pythium*)：屬內種的鑑定在形態上主要是看孢囊形狀、藏卵器外觀、藏精器外觀與數量、卵孢子外觀、菌絲膨大體(hyphae swelling)、厚膜孢子(chlamydospore)、菌絲生長適溫、寄主…等，早在 1981 年已有專書詳細介紹腐霉菌的生物特性與主要以形態為主的分類系統(Van Der Plaats-Niterink 1981)。2010 年 Uzuhashi 等人以核酸序列的親緣相關性為主體，將腐霉菌屬依孢囊的形態再區分成 5 個屬，分別是 *Pythium*—孢囊線形或線形膨大、*Globisporangium*—孢囊球形、*Ovatisporangium* (syn.: *Phytopythium*)—孢囊卵形、*Elongisporangium*—孢囊棍棒形或長條形、*Pilasporangium*—孢囊球形但不增生(proliferating)而菌絲多複雜分枝(Uzuhashi *et al.* 2010; Nguyen *et al.* 2022)。此外，利用核酸序列的親緣關係可容易的初步鑑定，例如使用 rDNA large subunit (LSU) D1/D2 與 ITS、β-tubulin、mitochondrial cytochrome oxidase II (*cox*II) gene (Villa *et al.* 2006; Uzuhashi *et al.* 2010) 或 whole genome sequencing (Nguyen *et al.* 2022)。

(2) *Phytopythium* 屬：鑑定方法參考上述腐霉菌，以及利用 rDNA -LSU, SSU, ITS 與 *cox*I 等核酸序列的親緣關係 (de Cock *et al.* 2015)。

(3) 亞腐霉菌(*Pythiogeton*)：種的鑑定主要依據孢囊形態、有性世代外觀、寄主…等，以及 rDNA ITS 序列比對的親緣性(Huang 2013)。

(4) 疫病菌(*Phytophthora*)：種的鑑定在形態上主要是孢囊形狀、孢囊柄的發生型式、藏卵器外觀、藏精器結合方式、卵孢子外觀、菌絲膨大體、厚膜孢子、配對型、菌絲生長適溫、寄主…等，早在 1963-1970 年已有報告詳細介紹以形態為主的疫病菌分類系統(Waterhouse 1963; 1970)，以 3 型孢囊乳突(乳突 papillate、半乳突 semi-papillate、無乳突 non-papillate)以及 2 種藏精器著生的方式(底著 amphigynous、側著 paragynous)將疫病菌種類區分成 6 大群。自 2000 年

Cooke 等人以 rDNA-ITS 核酸序列的親緣關係，將疫病菌區分成 10 群 Clade 1-10 (Cooke *et al.* 2000)，爾後有學者納入更多菌株到這 10 群(Blair *et al.* 2008; Kroon *et al.* 2012)，並認為傳統上利用藏精器著生方式以及同異絲型(homo or heterothallic)並不契合於核酸序列的親緣關係，但乳突形態與核酸序列的親緣相關性高(Yang *et al.* 2017)。目前在疫病菌上的鑑定以核酸序列的親緣關係並配合形態觀察，主要使用核酸序列片段為：enolase (Enl), 28S ribosomal DNA (28S), tigA gene fusion protein (TigA), internal transcribed spacer (ITS rDNA), elongation factor 1-alpha (EF1a), shock protein 90 (HSP90), beta-tubulin, 60S ribosomal protein L10 (RPL10), Ras-related protein ypt1 (ypt), and cytochrome c oxidase subunit 1 (COI), mitochondrial (Blair *et al.* 2008; Kroon *et al.* 2012; Yang *et al.* 2017; IDphy: molecular and morphological identification of *Phytophthora* based on the types- http://idtools.org/id/phytophthora/index.php)。

(5) 露菌(Downy mildew)：原先露菌各個屬的鑑定是依孢囊柄的形狀，與孢囊直接發芽產生發芽管或間接發芽產生游走子，可大略區分成 7 個屬(Alexopoulos *et al.* 1996)；露菌種類鑑定除了以形態與孢囊柄構造之外，和吸器形狀以及寄主種類有關 (Voglmayr *et al.* 2004)；爾後學者依露菌多片段核酸(LSU: D1/D2/D3, LSU: D7/D8, Cox2, B-Tubulin, NADH)序列的親緣關係，加上孢囊顏色、吸器(haustorium)形狀以及寄主種類將各種露菌區分為後述 4 群 (Beakes & Thine 2017; Goker *et al.* 2007; Thines 2014)。同群不同屬露菌的形態差異足夠區分，而同屬不同種露菌的寄主範圍除了少數例子之外，大多侷限在科，使露菌菌株可由表現型(形態與寄主範圍)與核酸序列的親緣關係來鑑定 (Thines *et al.* 2009; Voglmayr 2008)。

i. 禾本科的露菌（Graminicolous downy mildews, GDM）：*Baobabopsis* 屬、*Eraphthora* 屬、*Graminivora* 屬、*Peronosclerospora* 屬、*Poakatesthia* 屬、*Sclerospora* 屬、*Scleropthora* 屬、*Viennotia* 屬。

ii. 十字花科的露菌（Brassicolous downy mildews, BDM）：*Hyaloperonospora* 屬、*Perofascia* 屬。

iii. 孢囊有顏色的露菌（Downy mildews with colored conidia, DMCC）：*Pseudoperonospora* 屬、*Peronospora* 屬。

iv. 吸器為洋梨形的露菌（Downy mildews with pyriform haustoria, DMPH）：*Basidiophora* 屬、*Benua* 屬、*Bremia* 屬、

*Novotelnova*屬、*Paraperonospora*屬、*Plasmopara* 屬、*Plasmoverna* 屬、*Protobremia* 屬。

3. 白銹菌目 (Albuginales)

只有 1 個科 Albuginaceae，原先的分類系統白銹菌只有 1 個屬(*Albugo*) (Alexopoulos *et al.* 1996)，後來依據卵孢子及孢囊的形態以及核酸序列比對而區分為後述的 3 個屬 (*Albugo*, *Pustula*, *Wilsoniana*) (Thines & Spring 2005; Thines & Voglmyr 2009; Voglmayr 2008)，其中以卵孢子表面的紋路型式最為重要，為屬分類的主要依據，亦為某些同屬不同種的辨別依據(Thines &Spring 2005)，而以寄主來判斷種類則較不適合，因為有些種如 *A. candida* 寄主廣，而有些寄主可被數種白銹病菌寄生(Thines & Voglmyr 2009)。除了形態鑑定之外，目前鑑定需要有核酸序列(rDNA-LSU, rDNA-ITS, Cox2, B-Tubulin, NADH)的親緣關係(Voglmayr 2008)。

(1) *Albugo* 屬：孢囊球形無色而孢囊厚壁不明顯；卵孢子外壁網狀紋、疣瘤狀；寄主多為十字花科類(Brassicaceae)、毛蕊花科(Cleomaceae)、山楂科(Capparaceae)、旋花科(Convolvulaceae)，有些種類寄主範圍廣。

(2) *Pustula* 屬：孢囊球形淡黃色或圓柱形無色而孢囊厚壁在中圍；卵孢子外壁密緻網狀紋；寄主多為菊類(Asteridae)。

(3) *Wilsoniana* 屬：末端孢囊淡黃色及其他孢囊無色而孢囊厚壁在中圍上方處；卵孢子外壁不規則網狀紋；寄主多為石竹類(Caryophyllales)。

卵菌的鑑定原則上是以形態特徵與核酸序列的親緣關係並重，範例見臺灣玫瑰疫病菌之鑑定 (圖 4、圖 5、表 3)。

結語

植物病原卵菌在適合的氣象與環境下，傳播與感染作物造成發病的速度很快，所以最好管理方式是預防勝於治療，而病原菌的鑑定便是管理的基本工作，卵菌綱微生物的分類系統視不同學者的訂定而各有不同，只要說明是使用那一系統即可，重點在於鑑定的學名是否正確。例如櫟樹猝死病菌 *Phytophthora ramorum*，是許多國家的重要檢疫植物病原菌，在美國曾因偽陽性的診斷，造成業者的損失；羅勒露菌病菌一開始被認為是舊菌株 *Peronospora lamii*，該菌已存在歐洲多年，不是大問題而被忽視，因而遲遲未建立此病的檢疫對象，後來羅勒露菌病從瑞士開始大流行至歐洲多國，再隨著全球貿易而傳播到五大洲國家，爾後才鑑定是新種的羅勒露菌病菌(*P. belbahrii*) (Thines & Voglmyr 2009)。

植物病原卵菌傳統的鑑定方法是依據表現型(形態、生長條件、寄主範圍)，但執行不容易，原因有：有些菌是絕對寄生或產孢不

易，老舊菌株培養不易且形態易變，形態有時因培養條件而有差異，形態特性有時會重疊不易區分，目前的形態區分項目不足應用，人員要有相當的訓練才能勝任…。自 2000 年以來，核酸序列比對之親緣分析工具日益簡便，已漸漸成為微生物鑑定的主力工具，但不應忽略形態與其他表現型的重要性。然而核酸序列的菌株選擇相當重要，不應從網站(如 NCBI)隨便取一支來比對，應該要選擇模式標本(type specimen)即首次發表寄存菌株的核酸序列，通常採用該研究領域的著名學者所發表文章的菌株序列比較不會出錯。目前用在植物病原卵菌鑑定的核酸序列片段種類很多，其中以 rDNA-ITS 序列最普遍，但也有不適用的時候，這時便要考慮採用其他片段的核酸序列，未來是否發展出全基因組定序(whole genome sequencing，WGS)來比對，我們拭目以待。

引用文獻

Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*, 5th Ed. Elsevier Academic Press. 729pp.

Alexopoulos, C. J., and W. M. Charles. 1979. Introductory mycology 3rd edition. 632pp.

Alexopoulos, C. J., C. W. Mims, and M. Blackwell. 1996. Introductory mycology 4th edition. John Wiley and Sons Inc. Press, 868pp.

Ann, P. J., J. H. Huang, I. T. Wang, and W. H. Ko. 2006. *Pythiogeton zizaniae*, a new species causing basal stalk rot of water bamboo in Taiwan. *Mycologia* 98: 116–120.

Anonymous. 2019. List of plant diseases in Taiwan (5th edition). Taiwan Phytopathological Society Press. 329pp. (in Chinese)

Bala, K. 2010. *Phythopythium* Abad, de Cock, Bala, Robideau, Lodhi and Lévesque, gen. nov. and *Phytopythium sindhum* Lodhi, Shahzad and Lévesque, sp. nov. Personia 24:136–137.

Beakes, G. W., and M. Thines. 2017. Hyphochytriomycota and Oomycota. p. 435–505. *In*: Second Edition of Handbook of the Protists. (Archibald, J. M. et al. ed.) Jones and Bartlett Publishers, Boston.

Beakes, G. W., D. Honda, and M. Thines. 2014. Systematics of the Straminipila: Labyrinthulomycota, Hyphochytriomycota, and Oomycota. p. 42–100. *In*: The Mycota (Systematics and Evolution: Part A, Part 1, Edition 2). (Karl, E. ed) Springer Press.

Blair, J. E., M. D. Coffey, S. Y. Park, D. M.

Geiser, and S. Kang. 2008. A multi-locus phylogeny for Phytophthora utilizing markers derived from complete genome sequences. Fungal Genetics and Biology, 45: 266–277.

Chen, C. -H., J. –H. Huang, and T. –F. Hsieh. 2010. First report of *Peronospora belbahrii* causing downy mildew on basil. Plant Pathol. Bull. 19: 177–180. (in Chinese with English abstract)

Cooke, D. E. L., A. Drenth, J. M. Duncan, G. Wagels, and C. M. Brasier. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. Fungal Genetics and Biology 30: 17–32.

De Cock, A. W. A. M, A. M. Lodhi, T. L. Rintoul, K. Bala, G. P. Robideau, Z. Gloria Abad, M. D. Coffey, S. Shahzad, and C. A. Levesque. 2015. *Phytopythium*: molecular phylogeny and systematics. Personia 34: 25–39.

Dick, M. W. 2001. Straminipilous fungi. Springer Science+Business Media Press, 670pp.

Erwin, D. C., and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. American Phytopathological Society Press. 592pp.

Gaastra W, L. J. A. Lipman, A. W. A. M. De Cock, T. K. Exel, R. B. G. Pegge, J. Scheurwater, R. Vilela, and L. Mendoza. 2010. *Pythium insidiosum*: an overview. Vet. Microbiol. 146: 1–16.

Göker, M., H. Voglmayr, A. Riethmüller, and F. Oberwinkler. 2007. How do obligate parasites evolve? A multi-gene phylogenetic analysis of downy mildews. Fung. Genet. and Biol. 44: 105–122.

Gunderson, J. H., H. Elwood, A. Ingold, K. Kindle, and M. L. Sogin. 1987. Phylogenetic relationships between Chlorophytes, Chrysophytes, and Oomycetes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5823–5827.

Hansen, E. M., P. W. Reeser, and W. Sutton. 2012. *Phytophthora* beyond agriculture. Annu. Rev. Phytopathol. 50: 359–378.

Huang J. H. and Li, P. J. 2015. Occurrence and control of Impatiens downy mildew in Taiwan. Plant Pathol. Bull. 24: 89–96。(in Chinese with English abstract)

Huang, J. H., C. Y. Chen, Y. S. Lin, P. J. Ann, H. C. Huang, and W. H. Chung. 2013. Six new species of *Pythiogeton* in Taiwan, with an account of the

molecular phylogeny of this genus. Mycoscience 54: 130–147.

Huang, J. H., and P. J. Ann. 2019. Heavy rainfall has given rise to severe crop diseases caused by *Phytophthora* spp. in Taiwan. J. Plant Med. 61: 74. (Abstract in Chinese)

Jacobson, D. J., S. H. LeFebvre, R. S. Ojerio, N. Berwald, and E. Heikkinen. 1998. Persistent, systemic, asymptomatic infections of *Albugo candida*, an oomycete parasite, detected in three wild crucifer species. Can. J. of Bot. 76: 739–750.

Jyan, M. H., P. J. Ann, J. N. Tsai, S. D. Hsih, T. T. Chang, and R. F. Liou. 2004. Recent occurrence of *Phytophthora infestans* US-11 as the cause of severe late blight on potato and tomato in Taiwan. Can. J. Plant. Pathol. 26: 188–192.

Kamoun, S. , O. Furzer, J. D. G. Jones, H. S. Judelson, G. S. Ali, R. J. D. Dalio, S. G. Roy, L. Schena, A. Zambounis, F. Panabières, D. Cahill, M. Ruocco, A. Figueiredo,X. R. Chen, J. Hulvey, R. Stam, K. Lamour, M. Gijzen, B. M. Tyler, N. J. Grünwald, M. S. Mukhtar, D. F. A. Tomé, M. Tör, G. Van Den Ackerveken,J. McDowell, F. Daayf, W. E. Fry, H. Lindqvist-Kreuze, H. J. G. Meijer, B. Petre, J. Ristaino, K. Yoshida, P. R. J. Birc, F. Goversm. 2014. The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. Mol. Plant Pathol. 16: 413–434.

Khunti, J. P., R. R. Khandar, and M. F. Bhoraniya. 2000. Studies on host range of *Albugo cruciferarum* the incitant of white rust of mustard. Agri. Sci. Digest 20: 219–221.

Kroon, L. P. N. M., H. Brouwer, F. Govers, and A. W. A. M. de Cock. 2012. The genus *Phytophthora* anno 2012. Phytopathol. 102: 348–364.

Le´vesque, C. A. and A. W. A. M. de Cock. 2004. Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. Mycol Res 108: 1363–1383.

Mendoza, L., L. Ajello, and M. R. McGinnis. 1996. Infections caused by the Oomycetous pathogen *Pythium insidiosum*. J. Mycol. Med. 6: 151–164.

Nakagiri, A. 2000. Ecology and biodiversity of *Halophytophthora* species. Fungal Diver. 5: 153–164.

Nguyen, H. D. T., A. Dodge, K. Dadej, T. L. Rintoul, E. Ponomareva, F. N. Martin, A. W. A. M. de Cock, A. Levesque, S. A. Redhead, and C. F. J. Spies. 2022. Whole genome sequencing and

phylogenomic analysis show support for the splitting of genus *Pythium*. Mycologia 114: 501–515.

Saunders, G. A., J. O. Washburn, D. E. Egerter, and J. R. Anderson. 1988. Pathogenicity of fungi isolated from field collected larvae of the western treehole mosquito, Aedes sierrensis (Diptera, Culicidae). J. Invertebr. Pathol. 52: 360–363.

Steciow, M. M., E. Lara, C. Paul, A. Pillonel, and L. Belhahri. 2014. Multiple barcode assessment within the *Saprolegnia-Achlya* clade (Saprolegniales, Oomycota, Straminipila) brings order in a neglected group of pathogens. IMA Fungus 5: 439–448.

Takahashi, M., T. Ichitani, and M. Sasaki. 1977. *Pythium porphyrae* Takahashi et Sasaki, sp. nov. causing red rot of marine red algae Porphyra spp. Trans Mycol. Soc. Jpn. 18: 279–285.

Thines, M. 2014. Phyogeny and ecolution of plant pathogenic oomycetes—a global overview. Eurr. J. Plant Pathol. 138: 431–447.

Thines, M. and H. Voglmayr. 2009. An introduction to the white blister rusts (Albuginales). p. 77–92, *In*: Oomycete genetics and genomics: Diversity, interactions and research tools. (Lamour, K. and Kamoun, S. eds.) Wiley Press.

Thines, M., H. Voglmayr, and M. Göker. 2009. Taxonomy and phylogeny of the downy mildews. p. 47–75. *In*: Oomycete genetics and genomics: Diversity, interactions and research tools. (Lamour, K. and Kamoun, S. eds.) Wiley Press.

Thines, M. and O. Spring. 2005. A revision of *Albugo* (Chromista, Peronosporomycetes). Mycotaxon 92: 443–458.

Uzuhashi, S., M. Kakishima, and M. Tojo. 2010. Phylogeny of the genus *Pythium* and description of new genera. Mycoscience. 51: 337–65.

Van de Peer, Y. and De R. Wachter. 1997. Evolutionary relationships among the eukaryotic crown taxa taking into account site-to-site rate variation in 18S rRNA. Journal of Molecular Evolution 45: 619–630.

Van Der Plaats-Niterink, A. J. 1981. Monograph of the genus Pythium. Stud. Mycol. 21: 1–242.

Villa, N. O., K. Kageyama, T. Asano, and H. Suga. 2006. Phylogenetic relationships

of *Pythium* and *Phytophthora* species based on ITS rDNA, cytochrome oxidase II and b-tubulin gene sequences. Mycologia 98: 410–422.

Voglmayr, H. 2008. Progress and challenges in systematics of downy mildews and white blister rusts: new insights from genes and morphology. Eur. J. Plant Pathol. 122: 3–18.

Voglmayr, H., A. Riethmüller, M. Göker, M., Weiß, and F. Oberwinkler. 2004. Phylogenetic relationships of *Plasmopara*, *Bremia* and other genera of downy mildews with pyriform haustoria based on Bayesian analysis of partial LSU rDNA sequence data. Mycol. Res. 108: 1011–1024.

Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycol. Pap. 92. Comm. Mycol. Ins. Kew, Surrey, England. 22pp.

Waterhouse, G. M. 1970. The genus *Phytophthora* - Diagnoses (or Descriptions) and Figures from the Original Papers, 2nd edition. Mycol. Pap. 122: 1–59.

Yang, X., B. M. Tyler, and C. Hong. 2017. An expanded phylogeny for the genus *Phytophthora*. IMA Fungus 8: 355–384.

Yuan C. Y., J. H. Huang, P.Y. Ting, and P. J. Ann. 2020. First report of rose blight caused by *Phytophthora nagaii* and *Phytophthora bisheria* in Taiwan. J. Plant Med. 62: 13–22.

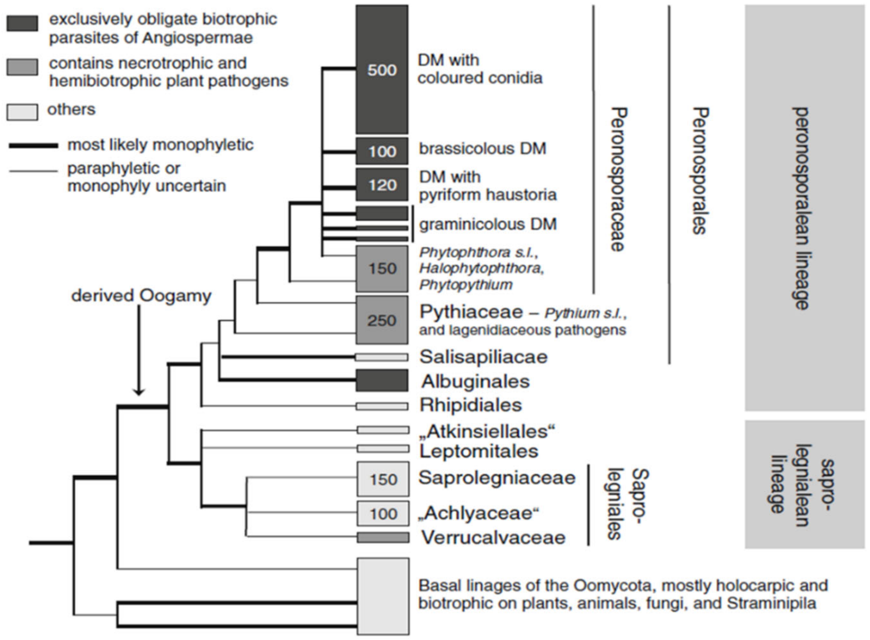

圖 1、卵菌分類的演化樹架構示意圖 (節錄自 Thines 2014)

Fig. 1. Phylogenetic and taxonomic schematic framework for the oomycetes.

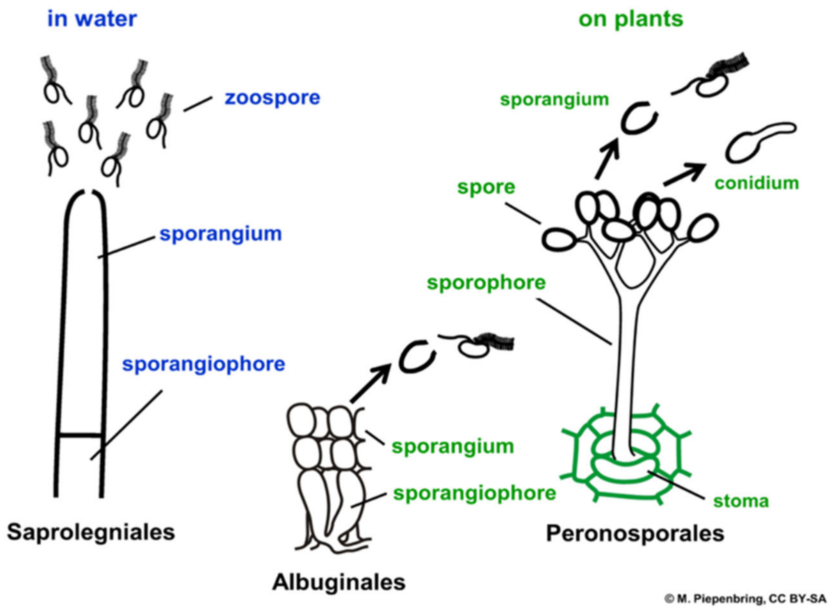

圖 2. 水霉目、白銹菌目、露菌目的孢囊形態差異。節錄自 https://www.wikiwand.com/en/Oomycete

Fig. 2. Sporangia structures in Saprolegniales, Albuginales and Peronosporales.

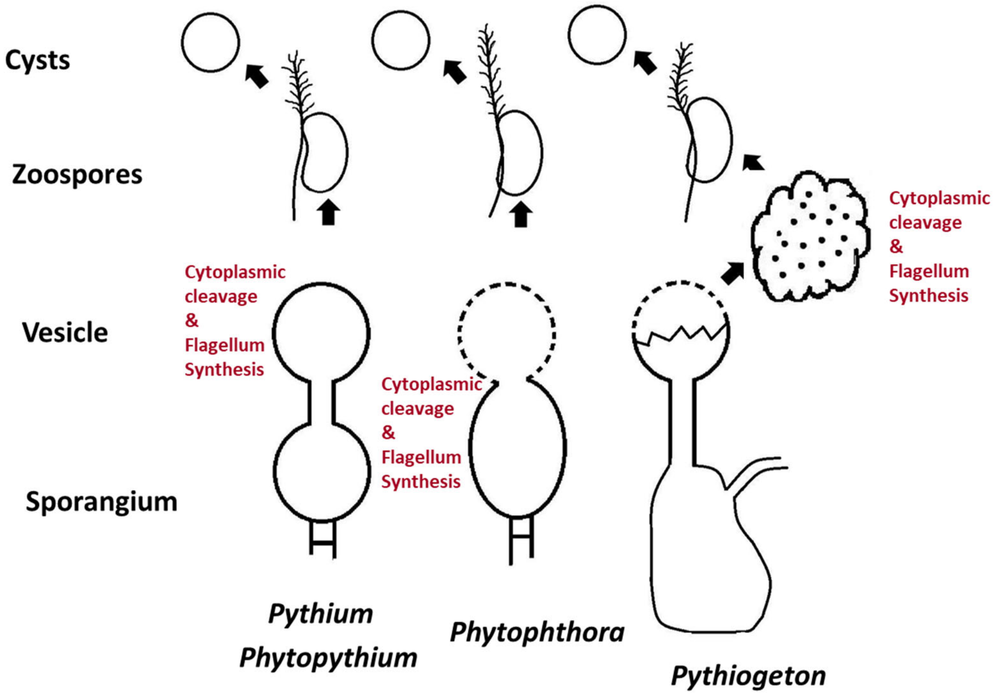

圖 3、*Pythium*、*Phytopythium*、*Phytophthora*、*Pythiogeton* 4 個屬的游走子產生的過程差異示意圖。(改畫自 https://www.slideshare.net/venkatesh.moktali/o12-motoaki-presentation)

Fig. 3. Schematic figure for the differentiation of *Pythium*, *Phytopythium*, *Phytophthora*, and *Pythiogeton*.

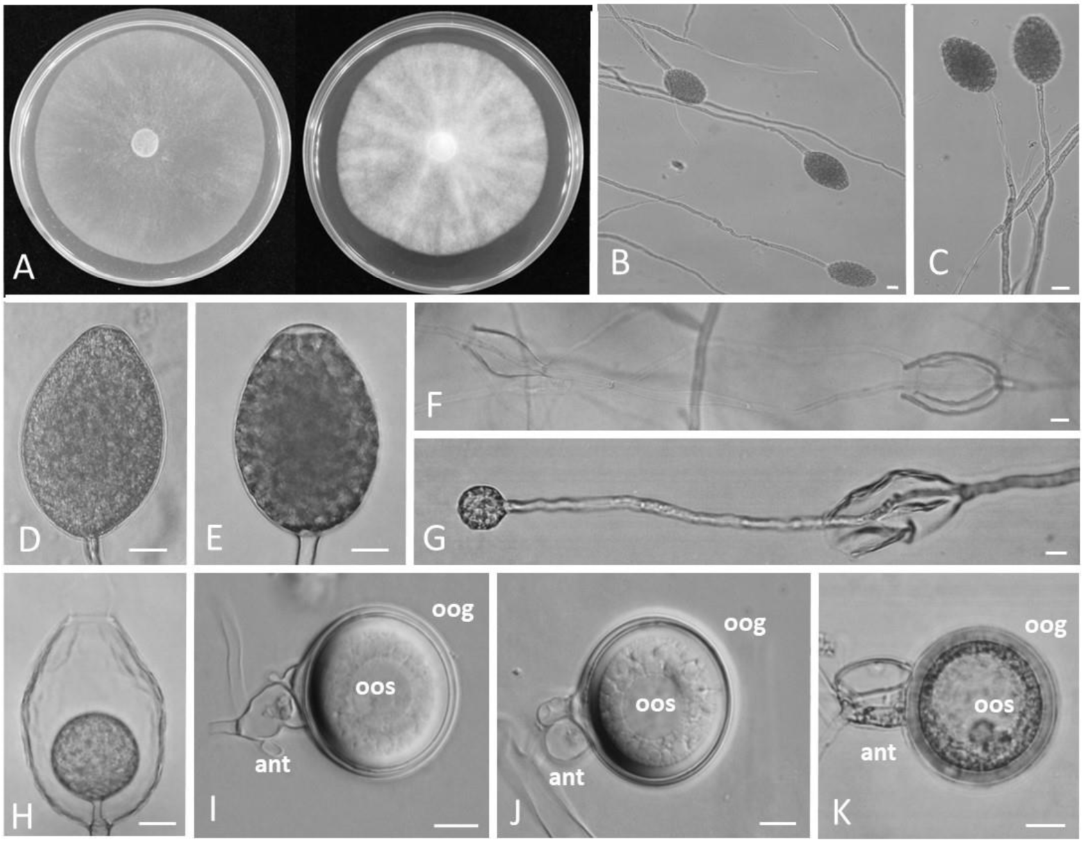

圖 4. 臺灣玫瑰疫病菌 Phytophthora nagaii (菌株 Ph-317)的形態、玫瑰疫病菌 Phytophthora bisheria 之型態。培養於 V8 (左)及 PDA(右)培養基之菌落型態(A)；孢囊柄不分枝(B, C)；未成熟(D)及成熟(E)孢囊卵形不具乳突；孢囊內嵌外展增生(F, G)或由巢內增生(H)；藏卵器(oog)；卵孢子(oos)；藏精器(ant)側著(I, J)及底著(K)。橫線條代表長度 10μm。(引用自 Yuan *et al.* 2020)

Fig. 4. Morphology of Phytophthora nagaii isolate Ph-308. Colony pattern of P. nagaii

圖 5. 利用近鄰結合法(neighbor-joining)進行以核醣體非轉錄區間(ITS)核酸序列建構臺灣玫瑰疫病菌(Ph-94, 307, 308, 109, 310, 314, 317)與其他親緣相近之疫病菌 rDNA-ITS 核酸序列親緣關係圖。(引用自 Yuan *et al.* 2020)

Fig. 5. Phylogenetic tree of *Phytophthora* spp. isolated from rose plants with other related *Phytophthora* spp. based on ITS sequences by using neighbor-joining analysis. (Reference from Huang *et al.* 2019)

表 1、卵菌和真菌之間不同的典型特徵

Table 1. Typical features that differ between oomycetes and fungi.

Character	Oomycetes	True Fungi
Sexual reproduction	Oospores	Zygospores, ascospores, basidiospores
Nuclear state of vegetative mycelium	Diploid; no septa	Haploid or dikaryotic; mostly septate
Cell wall composition	Beta glucans, cellulose	Chitin; rarely cellulose
Type of flagella on zoospore	Two types; whiplash at tail end, ciliated at front end	One type if produced; whiplash at tail end
Mitochondria	With tubular cristae	With flattened cristae

www.apsnet.org/edcenter/intropp/LabExercises/Pages/Oomycetes.aspx; Alexopoulos *et al.* 1996.

表 2. 植物病原卵菌分類簡表（主要列入植物病原菌部分）

Table 2. A brief table of classification of plant pathogenic oomycetes

	Introductory Mycology Alexopoulos and Charles (1996)	Hyphochytriomycota and Oomycota Beakes and Thines 2017	MycoBank (www.mycobank.org) (The International Mycological Association)
界 (Kingdom) 門* (Phylum) 綱** (Class) 目*** (Order) 科**** (Family) 屬***** (Genus)	Stramenopila (原生藻界) *Oomycota (卵球菌門) **Oomycetes (卵球菌綱) ***Saprolegniales (水黴目) ****Saprolegniaceae(水黴科) *****_Achlya_ (綿黴屬), Aphanomyces (絲囊黴屬), Dictyuchus (網囊黴屬), Saprolegnia (水黴屬) ***Peronosporales(露菌目) ****Peronosporaceae(露菌科) *****露菌 (7 個屬) ****Albuginaceae (白銹菌科) *****Albugo (白銹菌屬) ****Pythiaceae (腐黴菌科) *****_Pythium_ (腐黴菌屬), _Phytophthora_ (疫病菌屬)	Chromista (色藻界) *Oomycota (卵球菌門) Oomycetes **Saprolegniomycetes (水黴綱) ***Saprolegniales (水黴目) ****Saprolegniaceae (水黴科) *****_Achlya_ (綿黴屬), _Dictyuchus_ (網囊黴屬), _Saprolegnia_ (水黴屬) … ****Verrucalvaceae *****_Aphanomyces_ (絲囊黴屬)… **Peronosporomycetes (露菌綱) ***Albuginales (白銹菌目) ****Albuginaceae (白銹菌科) *****白銹菌 (_Albugo_, _Pustula_, _Wilsoniana_) ***露菌目 (Peronosporales) ****露菌科 (Peronosporaceae) *****_Phytophthora_ (疫病菌屬), _Phytopythium_ (疫腐黴菌屬), 露菌 (20 個屬)… ****Pythiaceae (腐黴菌科) *****_Pythium_ (腐黴菌屬), _Pythiogeton_ (亞腐黴菌屬),	Chromista (色藻界) *Oomycota (卵球菌門) **Peronosporomycetes ***Albuginales (白銹菌目) ****Albuginaceae (白銹菌科) *****白銹菌 (_Albugo_, _Pustula_, _Wilsoniana_) **Oomycetes (卵球菌綱) ***Saprolegniales (水黴目) ****Saprolegniaceae (水黴科) *****_Achlya_, _Dictyuchus_, _Saprolegnia_ … ****Leptolegniaceae *****_Aphanomyces_… ***Peronosporales (露菌目) ****Peronosporaceae (露菌科) *****_Phytophthora_ (疫病菌屬), 露菌 (20 屬) ***Pythiales (腐黴菌目) ****Pythiaceae (腐黴菌科) *****_Pythium_ (腐黴菌屬), _Phytopythium_ (疫腐黴菌屬), _Peronophythora_ (露疫菌屬)… ****Pythiogetonaceae (亞腐黴菌科) *****_Pythiogeton_ (亞腐黴菌屬)

參考資料：Introductory Mycology (Alexopoulos and Charles 1996) 、Hyphochytriomycota and Oomycota (Beakes and Thines 2017) 以及真生物多樣性研究中心(Centraalbureau voor Schimmelcultures fungal biodiversity center) 的線上資料庫 MycoBank

表 3. 臺灣玫瑰疫病菌(Ph-308, Ph-317)之形態描述（引用自 Yuan et al. 2020)

Table 3. Morphology description of Phytophthora spp. which caused root and basal stem rot of rose in Taiwan.

Character		*Phytophthora nagaii* [9]	Ph-308	*Phytophthora bisheria* [1]	Ph-317
Hyphal swellings		Spherical irregular, clustered	Spherical irregular, clustered	not observed	not observed
	Mean diameter (μm)	25 ± 9	24 ± 4	-	-
Chlamydospore		Present	Present	not observed	not observed
Sporangiophore		Unbranched or simple sympodial	Unbranched or sometimes simple	Unbranched (simplicia)	Mostly unbranched or simple sympodial
Sporangia		Terminal, ellipsoid, ovoid eccentric basal point	Terminal, ellipsoid, ovoid eccentric basal point	Ovoid, obpyriform, ovoid-obpyriform, obturbinate, globose or irregular	Ovoid, ovoid-obpyriform
	Size (μm)	26.8–79 × 23.7–55.4 (avg. 46.7 × 35. 4)	45.0–91.0 × 35.5–70.0 (avg. 73.0 × 55.1)	ovoid-obpyriform sporangia 26–44 × 21–30	46.3–76.9 × 32.3–60.6 (avg.62.1 × 45.8)
				obpyriform sporangia 42–72 x 24–36; globose on average 22.8	Globose rare
	L/B ratio	1.35	1.32	-	1.36
	Papilla	Nonpapillate	Nonpapillate	Semipapillate, some bipapillate	semipapillate
	Proliferation	Internal, extended nested or external	Internal, extended nested or external	No	No
	Caducity	No	No	No	No
Exit pore	width (μm)	6.7–24.6 (avg. 14.7)	9.3 – 20.8 (avg. 16.0)	7.0–9.0 (avg. 7.2)	4.0–10.5 (avg. 7.5)
Oogonia		Smooth	Smooth	smooth-walled, tapering	Smooth
	Shape	Spherical, funnel-shaped base, distorted	Spherical, funnel-shaped base	Spherical	Spherical
	Size (μm)	32.2–53.3 (avg. 40.0)	29.6 –45.5 (avg. 38.0)	24–46 (avg. 35)	23.5–34.5 (avg. 28.7)

Character		*Phytophthora nagaii*[9]	Ph-308	*Phytophthora bisheria*[1]	Ph-317
Sexual system		Homothallic	Homothallic	Homothallic	Homothallic
Oospore		Aplerotic	Aplerotic	Aplerotic	Aplerotic
	Size (µm)	29.5–47.7 (avg. 37.6)	23.1–40.9 (avg. 31.5)	25–31 (avg. 28.0)	19.7–32.6 (avg. 26.2)
	Wall thickness (µm)	3.3 ± 0.5	-	4.0–6.0	
Antheridum		Mostly paragynous, some amphigynous	Mostly paragynous, some amphigynous	paragynous	paragynous
	Size (µm)	13.5–28.1 × 10.7–15.3 (avg. 19.1 × 13.5)	11.0–22.7 × 9.1–19.0 (avg. 16.7 × 14.6)	-	7.1–14.8 × 7.0–11.0 (avg. 9.8 × 8.5)
Optimum growth (°C)		28	28	26	28
Maximum growth (°C)		33	33	32	34
Minimum growth (°C)		5	8	10	16
Growth rate (mm/d)		11.8	7	3.7–4.9	12

Classification and identification of important plant-pathogenic oomycetes

Jin-Hsing Huang [1,*] and Pao-Jen Ann [2]

[1] Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

[2] Former Research Fellow and Director, Plant Pathology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC

Abstract

Although oomycetes are phylogenetically close to some algae, some of their morphology and biological characteristics are similar to fungi. So, they are also called pseudo-fungi. Some members of the Oomycetes are important plant pathogens, causing economic losses in agriculture or damage to the landscape plants. Most of the pathogenic oomycetes (more than one thousand species) belong to the Order Peronosporales, some to the Order Albuginales, and a few to the Order Saprolegniales. Conventionally, morphology is the basic characters for oomycetes classification and identification. However, with the development of molecular biotechnology, the taxonomic systems of plant pathogenic oomycetes were modified frequently in the decades. Some old genera and species were split or reclassified, and more new species were discovered and named. In addition to the morphological characteristics, the phylogeny of nucleic acid sequences supports precise information for the identification of plant pathogenic oomycetes. Therefore, morphological characteristics and molecular phylogeny are essential for the classification and identification of plant pathogenic oomycetes.

Key words: Oomycetes, pseudo-fungi, plant diseases

*Corresponding author.
E-mail: jhhuang@tari.gov.tw